

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2003 年12 月11 日 (11.12.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/101491 A1

(51) 国際特許分類⁷: A61K 45/00, 31/517, 31/519,
31/5377, A61P 9/10, 17/06, 27/02, 35/00

本社内 Tokyo (JP). 矢野 慎二 (YANO,Shinji) [JP/JP]; 〒
103-8405 東京都 中央区 日本橋本町二丁目 2 番 6 号
三菱ウェルファーマ株式会社 東京本社内 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP03/06988

(22) 国際出願日: 2003 年6 月3 日 (03.06.2003)

(74) 代理人: 高島 一 (TAKASHIMA,Hajime); 〒541-0044
大阪府 大阪市 中央区伏見町四丁目 2 番 1 4 号 藤村
大和生命ビル Osaka (JP).

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2002-162130 2002 年6 月3 日 (03.06.2002) JP

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,
DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT,
LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO,
NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU,
ZA, ZM, ZW.

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 三菱
ウェルファーマ株式会社 (MITSUBISHI PHARMA
CORPORATION) [JP/JP]; 〒541-0046 大阪府 大阪市
中央区平野町二丁目 6 番 9 号 Osaka (JP).

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ,
SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許
(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),
OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 鈴木 毅
(SUZUKI,Tsuyoshi) [JP/JP]; 〒103-8405 東京都 中央区
日本橋本町二丁目 2 番 6 号 三菱ウェルファーマ株式
会社 東京本社内 Tokyo (JP). 北野 靖典 (KITANO,Ya-
sunori) [JP/JP]; 〒103-8405 東京都 中央区 日本橋本町
二丁目 2 番 6 号 三菱ウェルファーマ株式会社 東京

添付公開書類:
— 国際調査報告書

[続葉有]

(54) Title: PREVENTIVES AND/OR REMEDIES FOR SUBJECTS WITH THE EXPRESSION OR ACTIVATION OF Her2
AND/OR EGFR

(54) 発明の名称: Her2又は／及びEGFR発現又は活性化対象に用いる予防又は／及び治療剤

レーン LANE	1	2	3	4	5	6	7	8
上段 UPPER COLUMN								
下段 LOWER COLUMN								

(57) Abstract: Her2 and/or EGFR inhibitors to be administered to subjects with the overexpression or activation of Her2 and/or EGFR that have been subjected to an examination for detecting the expression or activity of Her2 and/or EGFR and thus regarded as having the overexpression or activation of Her and/or EGFR; and medicinal compositions containing such an inhibitor.

(57) 要約: Her2又は／及びEGFR発現又は活性を検出するための検査により被検対象のHer2又は／及びEGFRの発現又は活性を診断し、その結果、Her2又は／及びEGFRが過剰発現又は活性化していると判断された被検対象に対し て投与するためのHer2又は／及びEGFR阻害剤、及び、かかる阻害剤を含有する医薬組成物。

BEST AVAILABLE COPY

WO 03/101491 A1



2文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

明 細 書

Her2又は/及びEGFR発現又は活性化対象に用いる予防又は/及び治療剤

技術分野

本発明は、被検対象に対してHer2又は/及びEGFRの発現又は活性化診断を行い、
5 それらの発現が確認された被検対象を治療の対象とする一連の治療方法に使用する
薬剤に関する。

背景技術

従来、抗癌剤の標的分子はDNAやRNAの合成に関与する分子そして細胞分裂に関与
する分子が主であった。これらの抗癌剤は、標的分子が癌細胞特異的ではないため
10 、骨髄毒性などの重篤な副作用を引き起こすことが知られている。

近年、分子腫瘍学の発展により癌の発生は癌遺伝子、癌抑制遺伝子の異常によっ
て引き起こされることが明らかになった。最もよく知られた癌遺伝子として上皮増
殖因子受容体 (epidermal growth factor receptor、以下EGFRと略す。) とその類縁
のhuman EGFR type2 (以下Her2と略す。別名erbB-2とも呼ぶ。) が挙げられる。

15 EGFRとHer2はそれぞれ分子量170kD、185kDの膜貫通型糖蛋白質である。EGFRとHer2
の細胞内ドメインにはチロシンキナーゼドメインが存在し、リン酸化反応を通して
信号を核へ伝えている。互いのキナーゼドメインのアミノ酸配列は約80%の相同性を
持ち構造的によく似ているが、C末端にある自己リン酸化ドメインの相同性は約30%
と低く両レセプターの信号伝達機構に質的違いがあることが推察される。

20 EGFRは食道癌に89%と極めて高い頻度で発現している[J. Cancer Res. Clin.
Oncol. 1993 119, 401-407]。一方、その他の癌種では非小細胞肺癌の45%にEGFRの
過剰発現[Cancer Res. 1993 53, 2379-2385]、グリオブラストーマの50%にEGFRの遺
伝子増幅[Cancer Res. 2000 60, 1383-1387]などの報告がある。

Her2に関しては乳癌の39%に遺伝子増幅[J. Clin. Oncol. 1993 11, 1936-1942]
25 、卵巣癌の32%に過剰発現[Cancer Res. 1990 50, 4087-4091]、ホルモン抵抗性前立
腺癌の67%に過剰発現[Clinical Cancer Res. 2001 7, 2643-2647]などの報告がある
。

EGFRやHer2は様々な臓器癌に過剰発現しているが、これらによる癌化の分子機構の実態はリン酸化反応を介した信号伝達であり、EGFRやHer2の発現量の程度と独立にこの信号伝達機能が過剰に活性化することによっても臨床的に癌の進行を悪化させることがある。したがって、標的の発現が癌種によって異なる以上、これらを標

5 的とする治療は当然ながら個別の治療を必要とする。そして癌の性質を診断し標的分子の発現や活性化の有無に合わせて薬剤を選択すべきである。これにより効果的かつ合理的な治療が達成できる。

EGFRとHer2は互いにヘテロ複合体を形成し機能的な相互作用が見られる[J. Clin. Oncol. 2001 19(18s), 32s-40s]。そして、EGFRとHer2の共発現によりEGFR

10 単独による癌化がさらに加速されることが知られている[Cell 1987 58, 287-292]。また、乳癌、口腔癌、肺癌等においてEGFRとHer2の共発現があると予後不良になるとの報告もある[Clin. Cancer Res. 1999 5, 4164-4174]。

したがって、EGFRとHer2両方を阻害する薬剤（以下、単にデュアル阻害剤とも称す。）はどちらか一方にしか作用しない薬剤に比べて適応疾患が広がる有利性がある

15 のみならず、デュアル阻害の相乗作用によって共発現癌に対して効果的な治療を期待できる点でも優れている。

EGFRとHer2の診断技術は既に広く知られている。そしてEGFRに結合する抗体に蛍光色素をコンジュゲイトさせて口腔癌の前癌病変を早期に検出する試みも最近報告された[Cancer Res. 2001 61, 4490-4496]。一方、乳癌患者のHer2発現の有無によ

20 りアントラサイクリン系抗癌剤の抗腫瘍効果が予測できることを示唆する報告も出てきた[Clin. Cancer Res. 2001 7, 1577-1581]。したがって、EGFRやHer2の診断は病気を早期発見する役割と個々の患者に有効で適切な薬剤を選択するために有益となる可能性がある。

EGFR阻害剤としては中和抗体とチロシンキナーゼ阻害剤が抗癌剤の臨床開発段階

25 にある。Her2阻害剤では中和抗体ハーセプチン（Herceptin：商品名、Roche社）が転移性乳癌に対する治療剤として既に各国で上市されているが、チロシンキナーゼ阻害剤は抗癌剤の臨床開発段階にある。

同様にEGFRとHer2のデュアル阻害剤も研究開発されているがまだ実用化には至っていない。

抗Her2抗体ハーセプチンはHer2の発現診断ハーセプテスト（Herceptest：商品名）で治療対象患者の選別を既に行っているが、適応癌種は乳癌に限定されている。

5 EGFRキナーゼ阻害剤イレッサ（Iressa：商品名、A. Zeneca社）には従来の抗癌剤が持つ骨髄毒性などの重篤な副作用がないこと、そして、非小細胞肺癌に有効であることが臨床試験で示されてきた[Clin. Cancer Res. 2001 7, 3780s]。しかし、イレッサの臨床試験では治療対象患者の選択のためにEGFR発現を事前に確認する作業は行われていない。

10 EGFRとHer2のデュアル阻害剤は、いずれかの標的分子が発現している癌であれば適応範囲とする事ができるため、幅広い臓器癌を対象とする。しかし、既に記述したように、より正確には標的蛋白の発現又は活性化を診断することにより治療対象患者を適切に選別した上での処方が望ましく、デュアル阻害剤によるこの一連の治療法は医療現場において未だ確立されたものではない。

15 癌組織中の標的分子の発現と抗癌剤の感受性に関する別の例としては、乳癌組織中のチミジル酸合成酵素（Thymidylate synthase：TS）発現量及びジヒドロピリミジン脱水素酵素（Dihydropyrimidine dehydrogenase）活性値と5FU感受性は関連があるとの報告がある[日本癌治療学会誌 2000 35, 340]。しかし、実際に治療法として5FU処方前にTS発現診断を行うには至っていない。

20 上記のように、抗癌剤の処方にあたり、薬剤の標的分子を診断して効果的な治療法を予測することが切望されている。

発明の開示

本発明者らは、前述の事情に鑑み上記課題を解決すべく鋭意研究を進めた結果、被検対象に対してHer2又は／及びEGFRの発現又は活性診断を行い、それらの発現又は活性が確認された被検対象に対してHer2又は／及びEGFR阻害剤を投与することに
25 より、一連の治療法を確立し得ることを見出すに至った。

すなわち、本発明は、このような一連の治療法において投与されるHer2又は／及

びEGFR阻害剤、該阻害剤を有効成分とする医薬組成物、該阻害剤を被検対象に投与することを特徴とする予防又は／及び治療方法関し、さらに詳細には以下のとおりである。

本発明は、

5 (1) Her2又は／及びEGFR発現又は活性を検出するための検査により被検対象のHer2又は／及びEGFR発現又は活性を診断し、その結果、Her2又は／及びEGFRが過剰発現又は活性化していると判断された被検対象に対して投与するためのHer2又は／及びEGFR阻害剤、

10 (2) Her2又は／及びEGFRの活性を検出するための検査により被検対象のHer2又は／及びEGFRの活性を診断し、その結果、Her2又は／及びEGFRが活性化していると判断された被検対象に対して投与するための前記(1)に記載の阻害剤。

15 (3) Her2及びEGFR発現又は活性を検出するための検査により被検対象のHer2及びEGFR発現又は活性を診断し、その結果、Her2及びEGFRが過剰発現又は活性化していると判断された被検対象に対して投与されるHer2及びEGFR阻害剤である前記(1)に記載の阻害剤、

 (4) Her2及びEGFRの活性を検出するための検査により被検対象のHer2及びEGFRの活性を診断し、その結果、Her2及びEGFRが活性化していると判断された被検対象に対して投与するための前記(3)に記載の阻害剤。

20 (5) 被検対象が、Her2又は／及びEGFRの過剰発現又は活性化に起因する疾患を患っていると予想されるものである前記(1)に記載の阻害剤、

 (6) 被検対象が、Her2及びEGFRの過剰発現又は活性化に起因する疾患を患っていると予想されるものである前記(3)に記載の阻害剤、

 (7) 被検対象がヒトである、前記(1)から(6)のいずれか1に記載の阻害剤、

25 (8) Her2又は／及びEGFR発現又は活性を検出するための検査が体外検査である前記(1)に記載の阻害剤、

 (9) Her2及びEGFR発現又は活性を検出するための検査が体外検査である前記(3)

) に記載の阻害剤、

(10) Her2阻害剤及びEGFR阻害剤からなる合剤である前記(3)に記載の阻害剤

、

(11) Her2阻害剤及びEGFR阻害剤を同時に、別々に、又は経時的に間隔を置いて

5 投与するための前記(3)に記載の阻害剤、

(12) 体外検査が、抗体を用いた免疫学的方法又は核酸及び核酸誘導体を用いたハイブリダイゼーション法である前記(8)又は(9)に記載の阻害剤、

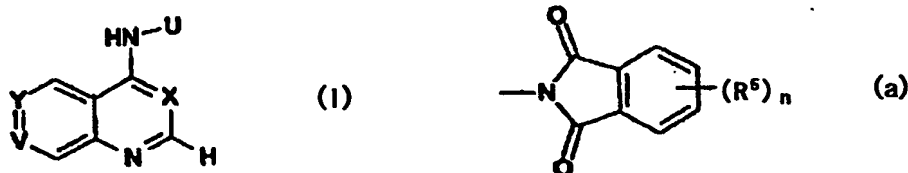
(13) 抗体を用いた免疫学的方法が、固相酵素免疫検定法、酵素-結合免疫アッセイ法、ラジオイムノアッセイ法、免疫組織化学的方法、及びウエスタンブロット

10 法からなる群より選ばれる方法である前記(12)に記載の阻害剤、

(14) 核酸及び核酸誘導体を用いたハイブリダイゼーション法が、RT-PCR法、ISH法、FISH法、ノーザンブロット法、及びサザンブロット法からなる群より選ばれる方法である前記(12)に記載の阻害剤、

(15) 下記一般式(I)

15



{式中、XはN又はCHであり；YがCR¹であって、VがNであるか；又はYがNであって、VがCR¹であるか；又はYがCR¹であって、VがCR²であるか；又はYがCR²であって、VがCR¹であり；R¹はC₁₋₄アルキル、C₁₋₄アルコキシ、CH₃SO₂CH₂CH₂NHCH₂-Ar-（ここで、Arはフェニル、フラン、チオフェン、ピロール及びチアゾールから選択され、その各々は所望により1もしくは2個のハロゲン、C₁₋₄アルキル又はC₁₋₄アルコキシで置換されていてもよい。）又は-C≡C-C(R⁶)(R⁷)(R⁸)（ここで、R⁶、R⁷、R⁸はそれぞれ

20

れ独立して、水素原子、ヒドロキシ、ハロゲン、 C_{1-4} アルキル又は C_{1-4} アルコキシ、又は、環が水素原子又は C_{1-4} アルキルで置換されていてもよく、環内にO、S又はNから選ばれる1から2個のヘテロ原子を含んでいてもよい C_{3-6} のシクロアルキルを表す。)を表し; R^2 は水素、ハロゲン、ヒドロキシ、 C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} アルコキシ、 C_{1-4} アルキルアミノ、ジ[C_{1-4} アルキル]アミノ及び-NHCO- R^9 (ここで、 R^9 は C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} アルコキシ、 C_{2-4} アルケニル又は C_{2-4} アルキニルを示す。)からなる群から選択され;Uは R^3 基で置換され、かつさらに所望により独立に選択される少なくとも1個の R^4 基で置換されていてもよいフェニル、ピリジル、3H-イミダゾリル、インドリル、イソインドリル、インドリニル、イソインドリニル、1H-インダゾリル、2,3-ジヒドロ-1H-インダゾリル、1H-ベンズイミダゾリル、2,3-ジヒドロ-1H-ベンズイミダゾリル又は1H-ベンゾトリアゾリル基を表し; R^3 はベンジル、ハロー、ジハロー及びトリハロベンジル、ベンゾイル、ピリジルメチル、ピリジルメトキシ、フェノキシ、ベンジルオキシ、ハロー、ジハロー及びトリハロベンジルオキシならびにベンゼンスルホニルからなる群から選択されるか;又は R^3 はトリハロメチルベンジル又はトリハロメチルベンジルオキシを表すか;又は R^3 は上記式(a)の基を表し(式中、 R^5 は各々独立にハロゲン、 C_{1-4} アルキル及び C_{1-4} アルコキシから選択され;かつ、nは0~3である); R^4 は各々独立にヒドロキシ、ハロゲン、 C_{1-4} アルキル、 C_{2-4} アルケニル、 C_{2-4} アルキニル、 C_{1-4} アルコキシ、アミノ、 C_{1-4} アルキルアミノ、ジ[C_{1-4} アルキル]アミノ、 C_{1-4} アルキルチオ、 C_{1-4} アルキルスルフィニル、 C_{1-4} アルキルスルホニル、 C_{1-4} アルキルカルボニル、カルボキシ、カルバモイル、 C_{1-4} アルコキシカルボニル、 C_{1-4} アルカノイルアミノ、N-(C_{1-4} アルキル)カルバモイル、N,N-ジ(C_{1-4} アルキル)カルバモイル、シアノ、ニトロ及びトリフルオロメチルである。)で示される置換ヘテロ芳香族化合物、もしくはその薬学的に許容される塩、それらの水和物もしくは溶媒和物、それらの光学活性体もしくはラセミ体、又は、それらのジアステレオマー混合物である前記(1)又はから(14)のいずれか1に記載の阻害剤、

(16) (4-(3-フルオロベンジルオキシ)-フェニル)-(6-(5-((2-メタンスルホニル-エチルアミノ)メチル)-フラン-2-イル)-ピリド[3, 4-d]ピリミジン-4-イル)-アミン;

(4-ベンジルオキシフェニル)-(6-(5-((2-メタンスルホニル-エチルアミノ)-メチル)-フラン-2-イル)-キナゾリン-4-イル)-アミン;
 5 N-{4-[(3-フルオロベンジル)オキシ]フェニル}-6-[5-([2-(メチルスルホニル)エチル]アミノ)メチル]-2-フリル]-4-キナゾリンアミン;

N-[4-(ベンジルオキシ)フェニル]-7-メトキシ-6-[5-([2-(メチルスルホニル)エチル]アミノ)メチル]-2-フリル]-4-キナゾリンアミン;
 10

N-(1-ベンジル-1H-インダゾール-5-イル)-7-メトキシ-6-[5-([2-(メチルスルホニル)エチル]アミノ)メチル]-2-フリル]-4-キナゾリンアミン;

15 N-{3-フルオロ-4-[(3-フルオロベンジル)オキシ]フェニル}-6-[5-([2-(メチルスルホニル)エチル]アミノ)メチル]-2-フリル]-4-キナゾリンアミン;

N-[1-(3-フルオロベンジル)-1H-インダゾール-5-イル]-6-[2-([2-(メチルスルホニル)エチル]アミノ)メチル]-1,3-チアゾール-4-イル]-4-キナゾリンアミン;
 20

6-[5-([2-(メチルスルホニル)エチル]アミノ)メチル]-2-フリル]-N-[4-(フェニルスルホニル)フェニル]-4-キナゾリンアミン;

N-{3-フルオロ-4-[(3-フルオロベンジル)オキシ]フェニル}-6-[2-([2-(メチルスルホニル)エチル]アミノ)メチル]-1,3-チアゾール-4-イル]-4-キナゾリンアミン;
 25

N-(1-ベンジル-1H-インダゾール-5-イル)-6-[2-([2-(メチルスルホニル)エチル]アミノ)メチル]-1,3-チアゾール-4-イル]-

4-キナゾリンアミン；

N-(3-フルオロ-4-ベンジルオキシフェニル)-6-[5-([2-(メチルスルホニル)エチル]アミノ)メチル]-4-フリル]-4-キナゾリンアミン；

- 5 N-(3-クロロ-4-ベンジルオキシフェニル)-6-[2-([2-(メチルスルホニル)エチル]アミノ)メチル]-4-フリル]-4-キナゾリンアミン；
 N-{3-クロロ-4-[(3-フルオロベンジル)オキシ]フェニル}-6-[5-([2-(メチルスルホニル)エチル]アミノ)メチル]-2-フリル]-4-キナゾリンアミン；

- 10 N-(1-ベンジル-1H-インダゾール-5-イル)-7-フルオロ-6-[5-([2-(メチルスルホニル)エチル]アミノ)メチル]-2-フリル]-4-キナゾリンアミン；

N-(3-トリフルオロメチル-4-ベンジルオキシフェニル)-6-[5-([2-(メチルスルホニル)エチル]アミノ)メチル]-4-フリル]-4-キナゾリンアミン；

- 15 N-[4-(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]-7-[3-(4-モルホリニル)プロポキシ]キナゾリン-6-イル]アクリルアミド；

N-{4-[(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]}-7-[3-メチル-3-(4-メチル-1-ピペラジニル)-1-ブチニル]-6-キナゾリニル]ア

- 20 クリルアミド；又は

N-{3-クロロ-4-[(3-フルオロベンジル)オキシ]フェニル}-6-[5-([2-(メタンスルホニル)エチル]アミノ)メチル]-2-フリル]-4-キナゾリンアミンもしくはその薬学的に許容される塩、それらの水和物もしくは溶媒和物、それらの光学活性体もしくはラセミ体、又は、それらのジアステレオマー混

- 25 合物である前記(1)から(15)のいずれか1に記載の阻害剤、

(17) N-[4-(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]-7-[3-(4-モルホリニル)プロポキシ]キナゾリン-6-イル]アクリルアミド、又は

N-{3-クロロ-4-[(3-フルオロベンジル) オキシ] フェニル}-6-[5-
({[2-(メタンシルホニル) エチル] アミノ}メチル)-2-フリル]-4-キ
ナゾリンアミンもしくはその薬学的に許容される塩、それらの水和物もしくは溶媒
和物、それらの光学活性体もしくはラセミ体又はそれらのジアステレオマー混合物

5 である前記(1)から(16)のいずれか1に記載の阻害剤、

(18) 前記(1)から(17)のいずれか1に記載の阻害剤を有効成分として含
有し、かつ製薬上許容され得る担体を含む医薬組成物、

(19) Her2又は／及びEGFRの過剰発現又は活性化に起因する疾患の予防又は／及
び治療薬である前記(18)に記載の医薬組成物、

10 (20) Her2又は／及びEGFRの過剰発現又は活性化に起因する疾患が癌、癌及び肉
腫の成長に伴う血管新生、癌転移に伴う血管新生、糖尿病性網膜症に伴う血管新生
、動脈硬化、又は乾癬である前記(19)に記載の医薬組成物、

(21) Her2又は／及びEGFR発現又は活性を検出するための検査により被検対象の
Her2又は／及びEGFR発現又は活性を診断し、その結果、Her2又は／及びEGFRが過剰
15 発現又は活性化していると判断された被検対象に対して投与するための、Her2又は
／及びEGFRの過剰発現又は活性化に起因する疾患の予防又は／及び治療薬、

(22) Her2又は／及びEGFRの過剰発現又は活性化に起因する疾患が癌、癌及び肉
腫の成長に伴う血管新生、癌転移に伴う血管新生、糖尿病性網膜症に伴う血管新生
、動脈硬化、又は乾癬である前記(21)に記載の予防又は／及び治療薬、

20 (23) Her2又は／及びEGFR発現又は活性を検出するための検査により被検対象の
Her2又は／及びEGFR発現又は活性を診断し、その結果、Her2又は／及びEGFRが過剰
発現又は活性化していると判断された被検対象に対して有効量のHer2又は／及び
EGFR阻害剤を投与することを特徴とする、Her2又は／及びEGFRの過剰発現又は活性
化に起因する疾患の予防又は／及び治療方法、

25 (24) Her2又は／及びEGFRの過剰発現又は活性化に起因する疾患が癌、癌及び肉
腫の成長に伴う血管新生、癌転移に伴う血管新生、糖尿病性網膜症に伴う血管新生
、動脈硬化、又は乾癬である前記(23)に記載の予防又は／及び治療方法、

(25) 前記(18)から(20)のいずれか1に記載の医薬組成物、及び該医薬組成物をHer2又は/及びEGFRの過剰発現又は活性化に起因する疾患の予防又は/及び治療に使用し得るか又は使用すべきであることを記載した書類とを含む商業的パッケージ、

- 5 (26) Her2又は/及びEGFRの過剰発現又は活性化に起因する疾患が癌、癌及び肉腫の成長に伴う血管新生、癌転移に伴う血管新生、糖尿病性網膜症に伴う血管新生、動脈硬化、又は乾癬である前記(25)に記載の商業的パッケージ、に関する。

本発明における各定義は次の通りである。

- 10 「Her2又は/及びEGFR発現を検出するための検査」としては、Her2又は/及びEGFRに対する抗体を用いた免疫学的方法、又は、核酸及び核酸誘導体を用いたハイブリダイゼーション法が挙げられ、免疫学的方法のより好ましい具体例としては、固相酵素免疫検定法、酵素-結合免疫アッセイ法、ラジオイムノアッセイ法、免疫組織化学的方法、又はウエスタンブロット法等が挙げられ、ハイブリダイゼーション法のより好ましい具体例としては、RT-PCR法、ISH法、FISH法、ノーザンブロット法、
15 又はサザンブロット法等が挙げられる。

- 「固相酵素免疫検定法 (ELISA=enzyme-linked immuno solvent assay)」とは、固相で行う酵素-結合免疫アッセイ法 (EIA) であり、抗原または抗体に共有結合で酵素を標識し、抗体または抗原の存在を、酵素活性を利用して検出する酵素-結合免疫アッセイ法を固相で行なう方法である。この方法は1971年 E. Engvalらによって
20 開発されたラジオイムノアッセイ (放射性免疫測定法: RIA) の抗原、抗体のいずれかに標識する放射性同位体を非放射性的の酵素に置き換えたもので、1990年にzeptomole (zeptomole: 10^{-21} モル) レベルの抗原の測定も可能な方法として開発された。

- ELISA法には直接抗体法、間接抗体法、競合法、二抗体サンドイッチ法などがあり、測定目的にあった方法が選択される。固相にはアガロース、マイクロタイターウ
25 エル、ラテックス粒子などが利用され、標識酵素には、西洋ワサビ由来のペルオキシダーゼが最もよく利用される。その他の酵素としては、アルカリホスファターゼ、ガラクトシダーゼ等も使われる。

なお、本発明においては、免疫組織化学的方法も適用可能である。

「ウエスタンブロット法」とは、PVDF膜などのメンブランに転写された蛋白質を抗体をつかって検出する方法である。抗体と抗原の特異的結合を利用するためサンプルは微量で済み、特異的にターゲットとする蛋白質を検出できる。

- 5 「ハイブリダイゼーション」とは、相補核酸鎖の相互作用を意味する。DNAは相補的相互作用（CはG、AはTと常に結合）による二本鎖構造をとっているため、相補鎖を分離するとお互いに好んでリアニール、すなわち“ハイブリダイズ”する。これは2本のDNA鎖や、塩基配列が十分に相補的なDNA鎖とRNA鎖の間でも生じる。ハイブリダイゼーションは、複製や転写など全てのDNAの生理的反応において生じ、サザン
- 10 ブロッティングやノーザンブロッティング、PCR等多くの分子生物学的手法の基礎をなす。

- 「PCR (Polymerase Chain Reaction)」とは、DNA Polymeraseの反応を連続的、連鎖的に実行することにより、1セットのprimerの間にはさまれるDNA断片を特異的に増幅する反応である。中でも、逆転写反応とPCRを組み合わせた「RT-PCR (reverse
- 15 transcription-polymerase chain reaction) 法」はもっとも感度が高い。

「ISH (in situ ハイブリダイゼーション) 法」は組織断片での遺伝子発現の検出法として有効な手段である。本法と蛍光検出法とを組み合わせたものがFISH法である。

- 「ノーザンブロット法」とは、mRNAの解析を目的とした技術である。2次構造をとりやすいRNAを変成条件下で電気泳動し、メンブラン（ナイロンやニトロセルロース等）にトランスファーする。変成方法によって1.ホルムアミドとホルムアルデヒドを用いる方法、2. グリオキサールを用いる方法、又は3. 水酸化メチル水銀を用いる方法等がある。
- 20

- 「サザンブロット法」とは、1975年にSouthernによって記載された転写の手法であり、標識された核酸プローブと相補的な塩基配列を持つ、転写されたDNAの領域を検出するものである。
- 25

Her2又は／及びEGFRの発現又は活性を検出するには、患者から採取した組織（癌

組織、血管壁組織、皮膚、口腔粘膜等）あるいは体液（血液、リンパ液）などを上記で挙げたような検査方法に付してHer2又は／及びEGFRの発現又は活性を検出する。

。

「Her2又は／及びEGFRの過剰発現又は活性化に起因する疾患」の具体例としては

- 5 、脳腫瘍、咽頭癌、喉頭癌、舌癌、食道癌、胃癌、大腸癌、非小細胞肺癌、膀胱癌、胆管癌、胆嚢癌、肝癌、腎癌、膀胱癌、前立腺癌、乳癌、卵巣癌、子宮頸癌、子宮体癌、皮膚癌、小児固形癌、骨腫瘍、血管腫等の癌、糖尿病性網膜症に伴う血管新生、動脈硬化、乾癬等が挙げられ、脳腫瘍、咽頭癌、喉頭癌、舌癌、食道癌、胃癌、大腸癌、非小細胞肺癌、膀胱癌、胆管癌、胆嚢癌、肝癌、腎癌、膀胱癌、前立腺癌、乳癌、卵巣癌、子宮頸癌、子宮体癌、皮膚癌等が好ましく、脳腫瘍、胃癌、大腸癌、非小細胞肺癌、膀胱癌、腎癌、前立腺癌、乳癌、卵巣癌等がより好ましい。
- 10

「Her2又は／及びEGFRの過剰発現又は活性化」とは、生体の恒常性（ホメオスタシス）にとって必要な発現量又は活性以上の発現又は活性であり、同一起源の正常組織にとって必要な発現量又は活性以上の発現又は活性である。

- 15 「Her2又は／及びEGFRが過剰発現又は活性化している患者」とは、Her2又はEGFRの少なくとも一方が過剰発現又は活性化している患者、好ましくは両方が過剰発現又は活性化している患者である。本発明のHer2又は／及びEGFR阻害剤は、上記のようなHer2又は／及びEGFRが過剰発現又は活性化している患者の治療のために投与することを特徴とする。

- 20 本発明の「Her2又は／及びEGFR阻害剤」としては、Her2及びEGFRが過剰発現又は活性化している患者に対して投与するHer2及びEGFR阻害剤であることが好ましく、Her2阻害剤及びEGFR阻害剤からなる合剤であっても良く、Her2阻害剤及びEGFR阻害剤を同時に、別々に、又は、経時的に間隔を置いて使用することも可能である。即ち、Her2阻害剤とEGFR阻害剤とを種々異なるルートにより同時に、別々に、あるいは、例えば同じ日に時間をずらして投与したり、数日から数週間又は数ヶ月にわたり、所定間隔で投与することも可能である。
- 25

本発明において使用するHer2阻害剤としては、抗Her2抗体ハーセプチン（Roche）

、TAK-165 (武田)、ETH-102 (ExonHit Ther.) 等が挙げられ、また、本発明において使用するEGFR阻害剤としては、イレッサ(A. Zeneca)、OSI-774 (Roche)、PKI-166 (Novartis)、EKB-569 (Wyeth) 等が挙げられる。これらの製造等に関しては、TAK-165についてはWO02/06249号公報、特開2001-348385号公報、特開2002-69070号公報、
 5 特開平9-136877号公報、特開平11-60571号公報等に、イレッサについてはWO96/33980号公報、特許第3040486号公報に、OSI-774についてはWO96/30347号公報に、PKI-166についてはWO97/02266号公報に、EKB-569については米国特許第6,002,008号に記載されている。

10 これらをHer2阻害剤及びEGFR阻害剤からなる合剤とする場合、それぞれの阻害剤から、1つ又は複数ずつを選択し適宜公知の方法により合剤を製造して使用することが出来る。

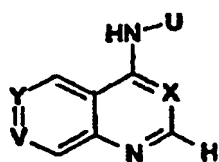
図面の簡単な説明

図1は、実施例4の化学発光をルミノCCDカメラで撮影した図である。

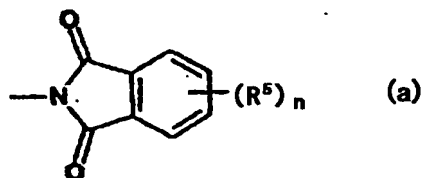
発明を実施するための最良の形態

15 本発明の阻害剤としては、デュアル阻害剤が好ましく、具体例としては、当該酵素の蛋白質キナーゼ活性の阻害に基づき作用する阻害剤、当該Her2又は／及びEGFRの細胞内蛋白質含量を減少させることにより作用する阻害剤、又は当該Her2又は／及びEGFRと信号伝達分子との物理的結合の阻害剤等が挙げられる。

「デュアル阻害剤」のより具体的な化合物の例としては、WO99/35146
 20 号公報 (特表2002-500225号公報) に開示されている下記一般式(I)



(I)



(a)

{式中、XはN又はCHであり；YがCR¹であって、VがNであるか；又はYが

- Nであって、Vが CR^1 であるか；又はYが CR^1 であって、Vが CR^2 であるか；又はYが CR^2 であって、Vが CR^1 であり； R^1 は $CH_3SO_2CH_2CH_2NHCH_2-Ar$ -基（ここで、Arはフェニル、フラン、チオフェン、ピロール及びチアゾールから選択され、その各々は所望により1もしくは2個のハロゲン、 C_{1-4} アルキル又は C_{1-4} アルコキシ基で置換されていてもよい）を表し； R^2 は水素、ハロゲン、ヒドロキシ、 C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} アルコキシ、 C_{1-4} アルキルアミノ及びジ[C_{1-4} アルキル]アミノからなる群から選択され；Uは R^3 基で置換され、かつさらに所望により独立に選択される少なくとも1個の R^4 基で置換されていてもよいフェニル、ピリジル、3H-イミダゾリル、インドリル、イソインドリル、インドリニル、イソインドリニル、1H-インダゾリル、2,3-ジヒドロ-1H-インダゾリル、1H-ベンズイミダゾリル、2,3-ジヒドロ-1H-ベンズイミダゾリル又は1H-ベンゾトリアゾリル基を表し； R^3 はベンジル、ハロー、ジハロー及びトリハロベンジル、ベンゾイル、ピリジルメチル、ピリジルメトキシ、フェノキシ、ベンジルオキシ、ハロー、ジハロー及びトリハロベンジルオキシならびにベンゼンスルホニルからなる群から選択されるか；又は R^3 はトリハロメチルベンジル又はトリハロメチルベンジルオキシを表すか；又は R^3 は上記式(a)の基を表し（式中、 R^5 は各々独立にハロゲン、 C_{1-4} アルキル及び C_{1-4} アルコキシから選択され；かつ、nは0～3である）； R^4 は各々独立にヒドロキシ、ハロゲン、 C_{1-4} アルキル、 C_{2-4} アルケニル、 C_{2-4} アルキニル、 C_{1-4} アルコキシ、アミノ、 C_{1-4} アルキルアミノ、ジ[C_{1-4} アルキル]アミノ、 C_{1-4} アルキルチオ、 C_{1-4} アルキルスルフィニル、 C_{1-4} アルキルスルホニル、 C_{1-4} アルキルカルボニル、カルボキシ、カルバモイル、 C_{1-4} アルコキシカルボニル、 C_{1-4} アルカノイルアミノ、N-(C_{1-4} アルキル)カルバモイル、N,N-ジ(C_{1-4} アルキル)カルバモイル、シアノ、ニトロ及びトリフルオロメチルである。}で示される置換ヘテロ芳香族化合物、特に好ましくは、N-{3-クロロ-4-[(3-フルオロベンジル)オキシ]フェニル}-6-[5-({[2-(メタンスルホニル)エチル]アミノ}メチル)-2-フリル]-4-キナゾリンアミン等が、又はWO 00/31048

号公報に開示されているN-[4-(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]-7-[3-(4-モルホリニル)プロポキシ]キナゾリン-6-イル]アクリルアミド等が挙げられる。

一般式(I)の化合物は、薬学的に許容される塩、水和物もしくは溶媒和物、幾何異性体、光学異性体もしくはラセミ体、又はジアステレオマー混合物のいずれの形態であってもよい。薬学的に許容される塩としては、塩酸、臭化水素酸、リン酸、メタリン酸、硝酸および硫酸などの無機酸塩、ギ酸、酢酸、酒石酸、トリフルオロ酢酸、クエン酸、リンゴ酸、乳酸、フマル酸、マレイン酸、安息香酸、フタル酸、グリコール酸、グルクロン酸、グルコン酸、コハク酸、メタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、イセチオン酸などの有機酸塩、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウムなどのアルカリ金属・アルカリ土類金属塩、アンモニウム、テトラメチルアミン、トリエチルアミン、ベンジルアミン、フェネチルアミン、モノエタノールアミン、ジエタノールアミン、トリス(ヒドロキシエチルアミン)などの有機塩基塩、リジン、アルギニン、アスパラギン酸、グルタミン酸などのアミノ酸塩が挙げられる。

一般式(I)の化合物の製造方法及びデュアル阻害作用についてはWO 99/35146号公報に、N-[4-(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]-7-[3-(4-モルホリニル)プロポキシ]キナゾリン-6-イル]アクリルアミドの製造方法及びデュアル阻害作用についてはWO 00/31048号公報に記載されている。

本発明に係るデュアル阻害薬には上記した全ての化合物の他に、デュアル阻害作用を有するその他の化合物(例えば、WO 02/066451に記載されている化合物)が含まれる。

本発明の阻害剤を医薬として用いる場合、本発明の阻害剤を製薬上許容しうる担体(賦形剤、結合剤、崩壊剤、矯味剤、矯臭剤、乳化剤、希釈剤、溶解補助剤等)と混合して得られる医薬組成物あるいは製剤(錠剤、ピル剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤、エマルジョン剤、エリキシル剤、懸濁剤、溶液剤、注射剤、

点滴剤あるいは坐剤等)の形態で経口的又は非経口的に投与することができる。

本発明において、非経口とは、皮下注射、静脈内注射、筋肉内注射、腹腔内注射あるいは点滴法等を含むものである。

経口投与用の固形投与剤型としては、散剤、顆粒剤、錠剤、ピル剤、カプセル剤
5 等の上記したものがあげられる。そのような剤型において、活性成分化合物は薬学
上許容され得る少なくとも一つの添加物(不活性希釈剤、滑沢剤、保存剤、抗酸化
剤、崩壊剤、結合剤、増粘剤、緩衝剤、甘味付与剤、フレーバー付与剤、パーフュー
ム剤等)を含むことができる。

経口投与用の液剤は、医薬として許容されるエマルジョン剤、シロップ剤、エリ
10 キシル剤、懸濁剤、溶液剤等が挙げられ、それらは当該分野で普通に用いられる不
活性希釈剤を含んでいてもよい。

注射用調剤(無菌注射用水性懸濁物あるいは油性懸濁物等)は、適当な分散化剤
又は湿化剤及び懸濁化剤等を用いて当該分野で知られた方法で調製することができ
る。その無菌注射用調剤は、また、希釈剤あるいは溶剤を用いた無菌の注射のでき
15 る溶液または懸濁液であってもよい。さらに、通常溶剤又は懸濁化溶媒として無菌
の不揮発性油も用いることができる。このためには、いかなる不揮発性油も脂肪酸
も使用できる。

直腸投与用の坐剤は、その薬物と適当な非刺激性の補形剤、例えば常温では固体
であるが、腸管の温度では液体で、直腸内で融解し、薬物を放出するもの等と混合
20 して製造することができる。

投与量は、年齢、体重、一般的健康状態、性別、食事、投与時間、投与方法、排
泄速度、薬物の組合せ、治療を行っている患者のそのときの病状の程度に応じ、そ
れらあるいはその他の要因を考慮して決められる。例えば上記一般式(I)で表され
る化合物を使用する場合、その1日の投与量は、患者の状態や体重、化合物の種類
25 、投与経路等によって異なるが、経口的には $0.01 \sim 1000 \text{ mg/kg 体重/日}$
、好ましくは $0.05 \sim 500 \text{ mg/kg 体重/日}$ を、一日1～数回に分けて投与す
る。また、非経口的には、皮下、静脈内、筋肉内又は直腸内に、約 $0.01 \sim 50$

mg/kg体重/日、好ましくは0.01～20mg/kg体重/日投与するのが好ましい。

- 本発明のHer2又は／及びEGFRの発現又は活性化した患者に用いる予防又は／及び治療剤は、Her2又は／及びEGFRの発現又は活性を検査し、Her2又は／及びEGFRが過剰発現又は活性化していると判断された場合には、Her2又は／及びEGFRの発現又は活性化に起因する疾患を患っていると判定し、当該患者に使用し得るか若しくは使用すべきであることを記載した書類とともにパッケージすることによって、好適に医薬品として提供される。

(実施例)

- 10 以下、本発明について実施例を挙げて詳細に説明するが、その要旨を超えない限り、本発明は以下に限定されるものではない。

実施例 1

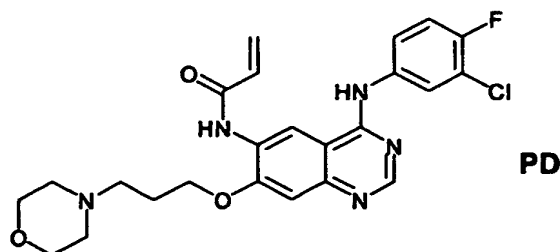
EGFRチロシンキナーゼ阻害作用

(方法)

- 15 試験に用いた薬剤PD 0183805は、EGFRチロシンキナーゼを阻害しEGFR過剰発現癌A431に対してin vivo制癌効果を示すことが知られている¹⁾。また、PD 0183805の2塩酸塩CI-1033はMDA-MB-453細胞をハーレギュリン刺激した時のHer2、erbB3そしてerbB4のチロシンリン酸化を阻害することが報告されている²⁾。

- 20 以下の記載においてPD 0183805をPD、PD 0183805の2塩酸塩CI-1033をPD・2HClと略す。PDの化学名及び化学構造は下記のとおりである。

N-[4-(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ-7-[3-(4-モルホリニル)プロポキシ]キナゾリン-6-イル]アクリルアミド



また、PD及びPD・2HClの合成は、W O O O / 3 1 0 4 8 号公報に記載された方法に準じて行なった。

1) Vincent, P.W., Patmore, S.J., Bridges, A.J., Kirkish, L.S., Dudeck, R.C., Leopold, W.R., Zhou, H., Elliott, W.L. Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 40: 117,
5 1999.

2) Slichenmyer, W.J., Elliott, W.L. and Fry, D.W. Semin. Oncol., 28: 80, 2001.

ヒト類表皮癌細胞A431 (東北大学加齢医学研究所 医用細胞資源センターより供与 ; カタログ番号TKG-0182、またはATCCより購入の場合 ; ATCC番号CRL-1555) より
10 得られた部分的に精製されたEGFRを用い、Linda J. Pikeらのチロシンキナーゼ活性測定方法 (Proceedings of the National Academy of Science of the U.S.A., 1982, 79, 1433)を改良して行った。詳しい方法は以下の通りである。

A431細胞を10%FBS添加DMEM培地中で37℃、5%炭酸ガス下で培養し、この細胞を10 mM HEPES緩衝液(pH7.4)、0.25 M サッカロース、0.1 mM EDTAを含む溶液中で
15 ホモジネート後、3,000×Gで5分間遠心分離し、更にその上清を100,000×Gで30分間遠心分離を行いA431細胞膜画分を得、これを酵素源である部分精製EGFRとして測定に供した。

A431細胞膜画分 (10~15 µg)、30 mM HEPES緩衝液 (pH7.4)、2 mM MnCl₂、100 µM Na₃VO₄、及びジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解した薬剤の反応混液 (20 終濃度 1% DMSO) に、100 ngのEGFを加えた後、合成基質アンジオテンシンII (Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe) 50 µg、アデノシン三リン酸 (γ-³²P-標識体 37 KBqを含む) 最終濃度 10 µMを加えて反応を開始した。この時の容量は60 µLである。

反応は氷中にて30分間行い、10 mg/mL牛血清アルブミンを6 µLと20
25 %トリクロロ酢酸25 µL加えて反応を停止し、そのまま氷中に30分間放置した。

その後5000Gで2分間遠心した後、上清を40 µLサンプリングしてP81

ホスホセルロースペーパーに吸着させた。これを0.75%リン酸水に5分間浸して洗浄する操作を4回繰り返した後ペーパーを取り出し、液体シンチレーションカウンタで ^{32}P のカウントを測定し、この値をAとした。

同時に薬剤を添加しない反応、薬剤およびEGF共に添加しない反応のカウント

5 も測定し、それぞれB、Cとした。

これらの値から、チロシンキナーゼ阻害率は、下記の式により求められる。

$$\text{阻害率(\%)} = 100 - \{(A - C) / (B - C)\} \times 100$$

薬剤の添加濃度を変化させて得られた阻害率より IC_{50} 値(50%阻害濃度)を算出した。結果を下記表に示す。

10 (表1)

EGFRチロシンキナーゼ阻害作用	
薬剤	IC_{50} nM
PD	0.4

実施例2

細胞Her2チロシンキナーゼ阻害作用

(方法)

細胞は659番目のバリンをグルタミン酸に置換することにより恒常的に活性化
 15 した変異c-erbB2で形質転換したNIH3T3マウス繊維芽細胞株(東北大学加齢医学研究所 医用細胞資源センターより供与; カタログ番号TKG-0298)を用いた(以下A4細胞と記す。)。この細胞株は10%FBS添加DMEM/F12混合培地(以下アッセイ培地と記す。))により37℃、5%炭酸ガス下でプラスチック培養皿中で培養維持した。

アッセイ培地に懸濁したA4細胞を12ウェルプレートに 3×10^5 /well蒔き込み、
 20 コンフレントになった細胞を薬剤とともに2時間37℃で培養した。細胞をPBSで1回洗浄した後、細胞溶解バッファ(60 mM トリス (pH6.8)、2% SDS、10% グリセロール、5% ベータメルカプトエタノール、0.001% プロモフェノールブルー)に再懸濁し、超音波処理したものを全細胞溶解液としてウェスタンブロット法に用いた。

蛋白量25 μg 分の全細胞溶解液を7.5% SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動にかけ

た後、PVDF膜に転写した。膜をブロッッキングした後、0.1% ツイーン20添加トリス緩衝液中で抗ホスホチロシン マウスモノクローナル抗体PY20(Transduction Laboratories、カタログ番号P11120)とインキュベーションし、次にHRP標識抗マウス2次抗体(DAKO、カタログ番号P0447)で処理した。膜を化学発光試薬ECL western blotting detection reagents(Amersham pharmacia biotech、カタログ番号RPN2209)で処理し化学発光をルミノCCDカメラで撮影した。化学発光の撮影と画像解析はMacintosh版デンストグラフ(ATTO、製品型式AE-6930)を用いて行った。

得られたリン酸化シグナルを定量化し、化合物非添加時のシグナルを100%コントロールとし、バックグラウンドシグナルを0%とし、薬剤によるリン酸化阻害を%コントロールで評価した。結果を下記表に示す。

(表2)

細胞Her2チロシンキナーゼ阻害作用		
薬剤	%コントロール (0.1 μ M)	%コントロール (1 μ M)
PD	77	12

実施例1、2の結果より、PDはHer2又はEGFRのいずれに対しても阻害作用を示すこと、即ち、PDがHer2又は/及びEGFR阻害剤として作用することが理解できる。

実施例3

in vivo制癌効果

(方法)

ヒト膀胱癌HPAC(ATCC番号CRL-2119)、ヒト大腸癌LS174T(ATCC番号CL-188)そしてヒト肺癌NCI-H520(ATCC番号HTB-182)はATCCより購入した。ヒト子宮頸癌ME180は東北大学加齢医学研究所・医用細胞資源センターより供与いただいた(カタログ番号TKG-0437、ATCCより購入の場合はATCC番号HTB-33)。Balb/c雌ヌードマウス(Balb/cAJcl-nuマウス、日本クレア社、入荷時5週令)の背部皮下にPBSに懸濁した培養ヒト癌細胞を $5 \times 10^6/100 \mu$ l移植し、7日前後経過して移植腫瘍の平均体積がほぼ100 mm³となった時点で各群の平均腫瘍体積値が一定になるように1群4匹ずつ群分けを行った。

腫瘍体積値はノギスで長径と短径を測定し、 $[(\text{短径})^2 \times (\text{長径} / 2)] = \text{腫瘍}$

体積[mm³]とした。群分けを行った日から14日間連日薬剤を1日1回強制経口投与し、対照群のマウスには薬剤を与えなかった。投与開始日の腫瘍体積値を1とした相対腫瘍増殖率を対照群と薬剤処理群で算出した。制癌効果を%コントロールで示した。%コントロールは下記式により算出した。

- 5 $\% \text{コントロール} = [(\text{薬剤処理群の最終日の平均相対腫瘍増殖率} - 1) / (\text{対照群の最終日の平均相対腫瘍増殖率} - 1)] \times 100$

結果を下記表に示す。

(表3)

ヒト肺癌HPAC (EGFR, Her2両陽性) に対する制癌効果			
薬剤	投与量 mg/kg	平均相対腫瘍増殖率	%コントロール
対照	—	4.6	100
PD	10	2.4	39
PD	30	1.4	11

(表4)

ヒト子宮頸癌ME180 (EGFR陽性, Her2陰性) に対する制癌効果			
薬剤	投与量 mg/kg	平均相対腫瘍増殖率	%コントロール
対照	—	10.9	100
PD・2HCl	10	3.5	25
PD・2HCl	30	2.7	17

10 (表5)

ヒト直腸癌LS174T (EGFR陰性, Her2陽性) に対する制癌効果			
薬剤	投与量 mg/kg	平均相対腫瘍増殖率	%コントロール
対照	—	18.2	100
PD	10	10.7	56
PD	30	6.8	34

(表6)

ヒト肺癌NCI-H520 (EGFR, Her2両陰性) に対する制癌効果			
薬剤	投与量 mg/kg	平均相対腫瘍増殖率	%コントロール
対照	—	8.7	100
PD・2HCl	10	8.3	95
PD・2HCl	30	7.7	87

上記各表に示した結果から、Her2又は／及びEGFR阻害剤は、(EGFR、Her2両陽性)、(EGFR陽性、Her2陰性) 又は (EGFR陰性、Her2陽性) の癌細胞に対して増殖抑制効果を示すこと、即ち、Her2又は／及びEGFR阻害剤はHer2又は／及びEGFRの過剰発現

又は活性化による疾患の予防・治療に有効であることが理解できる。

実施例 4

ウェスタンブロット法によるEGFR又はHer2の発現確認

(方法)

- 5 ヒト膀胱癌HPAC (ATCC番号CRL-2119)、PANC1 (ATCC番号CRL-1469)、ヒトリンフオーマDaudi (ATCC番号CCL-213)、ヒト大腸癌LS174T (ATCC番号CL-188) はATCCより購入した。ヒト外陰癌A431 (カタログ番号TKG-0182)、ヒト子宮頸癌ME180 (カタログ番号TKG-0437)、ヒト舌癌HSC-3 (カタログ番号TKG-0484)、HSC-4 (カタログ番号TKG-0489) は東北大学加齢医学研究所・医用細胞資源センターより供与いただいた。
- 10 100mm培養皿でほぼコンフルントになるまで細胞培養した。100mm培養皿の培地を除去しPBSで1回洗浄した後に約0.6mLのRIPAバッファ (50mM トリス (pH7.4)、150mM 塩化ナトリウム、1% NP-40、0.25% デオキシコール酸、1mM EDTA、プロテアーゼインヒビターカクテル) を添加し、氷上で10分間静置した。細胞溶解液を1.5mL遠心チューブに回収して10,000rpmで10分間冷却遠心した。上清を別なチューブに移して
- 15 この細胞溶解液をウェスタンブロット法に用いた。
- 蛋白量25 μ g分の細胞溶解液を7.5% SDS-ポリアクリルアミド電気泳動にかけた後PVDF膜に転写した。膜をブロッキングした後、0.1% ツイーン20添加トリス緩衝液中でEGFRに対する特異抗体 (Santa Cruz Biotechnology、カタログ番号sc-03) またはHer2に対する特異抗体 (Upstate biotechnology、カタログ番号06-562) とインキュベ
- 20 ーションし、次にHRP標識抗ウサギ2次抗体 (ICN Pharmaceuticals、カタログ番号55689) で処理した。膜を化学発光試薬ECL western blotting detection reagents (Amersham pharmacia biotech、カタログ番号RPN2209) で処理し化学発光をルミノCCDカメラで撮影した。

図1に画像を示した。また、下記表に図1中の各レーンの説明を示した。

(表 7)

レーン	細胞株	上段図	下段図
		EGFR発現	Her2発現
1	HPAC	陽性	陽性
2	PANC1	陽性	陽性
3	ME180	陽性	陰性
4	Daudi	陰性	陰性
5	A431	陽性	陽性
6	LS174T	陰性	陽性
7	HSC3	陽性	陽性
8	HSC4	陽性	陽性

実施例 5

RT-PCR法によるEGFR又はHer2の発現確認

(方法)

- 5 Molecular Cloning, A Laboratory Manual Vol. 1, Second Editionに従い実験を行なった。以下に詳細に記述する。

癌細胞からS.N.A.P.™ total RNA isolation kit (invitrogen、カタログ番号 45-0472) によりtotal RNAを抽出した。得られたtotal RNAのうち1 μ gを用い逆転写反応を行なった。逆転写反応は1st Strand cDNA Synthesis Kit for RT-PCR (Roche

10 、カタログ番号1 483 188) を用いて行なった。

- このときのプライマーとしてはランダムプライマー p(dN)6を用いた。得られたcDNAの1 μ Lを用いてPCRを行なった。EGFR mRNAの検出時はプライマーはHuman Epidermal growth factor receptor and GAPDH genes Dual-PCR kit (Maxim Biotech、カタログ番号DP-10065-G) 添付のプライマーを用い、酵素はTaKaRa Ex Taq™ (宝
- 15 酒造、カタログ番号RR001A) を用いた。反応条件は96℃ 1分 1サイクル、96℃ 1分 58℃ 1分 30秒 30サイクル、72℃ 10分 1サイクルで行なった。Her2 mRNAの検出時はプライマーはRT-PCR primer set HUMAN erb-B2 (CLP、カタログ番号5254.H) 添付のプライマーを用い、酵素はTaKaRa Ex Taq™ (宝酒造、カタログ番号RR001A) を用いた。反応条件は94℃ 5分60℃ 5分 1サイクル、72℃ 2分 94℃ 1分 60℃ 1分 40サイ
- 20 クル、72℃10分 1サイクルで行なった。得られたPCR産物についてアガロース電気泳動を行い、発現の有無の確認を行なった。

上記実施例 4、5 の結果から、ウエスタンブロット法やRT-PCR法によりHer2又はEGFRの発現確認が可能であることがわかる。

- また、上記実施例 2、4 の結果から、Her2 又は EGFR 活性化の検査が可能であることが分かる。このような検査法を用いて患者における Her2 又は／及び EGFR の発現又は活性を検査し、Her2 又は／及び EGFR が過剰発現又は活性化していると判断された場合には、Her2 又は／及び EGFR の発現又は活性化に起因する疾患を患っていると判定し、本発明の医薬品を投与する。

産業上の利用可能性

- 本発明の阻害剤は、上記のように癌患者に対する有効な治療法であることに加え、前立腺癌や乳癌でのホルモン感受性癌から抵抗性癌への移行を防ぐための予防又は／及び治療薬としても期待できる。更に、固形癌及び肉腫の成長に伴う血管新生、癌転移に伴う血管新生、糖尿病性網膜症に伴う血管新生、動脈硬化、乾癬等の予防又は／及び治療薬としても期待できる。

- 本出願は、日本で出願された特願 2002-162130 を基礎としており、それらの内容は、本明細書に全て包含される。

20

25

請求の範囲

1. Her2又は／及びEGFRの発現又は活性を検出するための検査により被検対象のHer2又は／及びEGFRの発現又は活性を診断し、その結果、Her2又は／及びEGFRが過剰発現又は活性化していると判断された被検対象に対して投与するためのHer2又は
5 /及びEGFR阻害剤。
2. Her2又は／及びEGFRの活性を検出するための検査により被検対象のHer2又は／及びEGFRの活性を診断し、その結果、Her2又は／及びEGFRが活性化していると判断された被検対象に対して投与するための請求の範囲 1 に記載の阻害剤。
3. Her2及びEGFRの発現又は活性を検出するための検査により被検対象のHer2及
10 びEGFRの発現又は活性を診断し、その結果、Her2及びEGFRが過剰発現又は活性化していると判断された被検対象に対して投与するための請求の範囲 1 に記載の阻害剤。
。
4. Her2及びEGFRの活性を検出するための検査により被検対象のHer2及びEGFRの活性を診断し、その結果、Her2及びEGFRが活性化していると判断された被検対象
15 に対して投与するための請求の範囲 3 に記載の阻害剤。
5. 被検対象が、Her2又は／及びEGFRの過剰発現又は活性化に起因する疾患を患っていると予想される患者である、請求の範囲 1 から 4 のいずれか 1 項に記載の阻害剤。
6. 被検対象が、Her2及びEGFRの過剰発現又は活性化に起因する疾患を患ってい
20 ると予想される患者である、請求の範囲 1 から 4 のいずれか 1 項に記載の阻害剤。
7. 被検対象がヒトである、請求の範囲 1 から 6 のいずれか 1 項に記載の阻害剤。
。
8. Her2又は／及びEGFRの発現又は活性を検出するための検査が体外検査である請求の範囲 1 から 4 のいずれか 1 項に記載の阻害剤。
- 25 9. Her2及びEGFRの発現又は活性を検出するための検査が体外検査である請求の範囲 1 から 4 のいずれか 1 項に記載の阻害剤。
10. Her2阻害剤及びEGFR阻害剤からなる合剤である請求の範囲 3 に記載の阻害

剤。

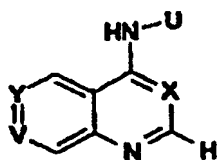
1 1. Her2阻害剤及びEGFR阻害剤を同時に、別々に、又は経時的に間隔を置いて投与するための請求の範囲 1 から 9 のいずれか 1 項に記載の阻害剤。

1 2. 体外検査が、抗体を用いた免疫学的方法又は核酸及び核酸誘導体を用いた
5 ハイブリダイゼーション法である請求の範囲 8 又は 9 に記載の阻害剤。

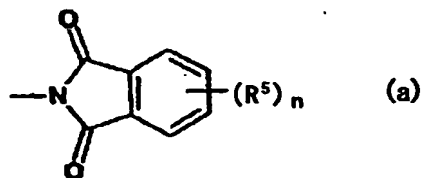
1 3. 抗体を用いた免疫学的方法が、固相酵素免疫検定法、酵素-結合免疫アッセイ法、ラジオイムノアッセイ法、免疫組織化学的方法、及びウエスタンブロット法からなる群より選ばれる方法である請求の範囲 1 2 に記載の阻害剤。

1 4. 核酸及び核酸誘導体を用いたハイブリダイゼーション法が、R T-P C R
10 法、I S H法、F I S H法、ノーザンブロット法、及びサザンブロット法からなる群より選ばれる方法である請求の範囲 1 2 に記載の阻害剤。

1 5. 下記一般式 (I)



(I)



(a)

{式中、XはN又はCHであり；YがCR¹であって、VがNであるか；又はYが
15 Nであって、VがCR¹であるか；又はYがCR¹であって、VがCR²であるか；
又はYがCR²であって、VがCR¹であり；R¹はC₁₋₄アルキル、C₁₋₄アルコキシ、
CH₃SO₂CH₂CH₂NHCH₂-Ar-（ここで、Arはフェニル、フラン、チオフェン、ピロール及びチアゾールから選択され、その各々は所望により1も
しくは2個のハロゲン、C₁₋₄アルキル又はC₁₋₄アルコキシで置換されていても
20 よい。）又は-C≡C-C(R⁶)(R⁷)(R⁸)（ここで、R⁶、R⁷、R⁸はそれぞれ独立して、水素原子、ヒドロキシ、ハロゲン、C₁₋₄アルキル又はC₁₋₄アルコキシ、又は、環が水素原子又はC₁₋₄アルキルで置換されていてもよく、環内にO

- 、S又はNから選ばれる1から2個のヘテロ原子を含んでいてもよい C_{3-6} のシクロアルキルを表す。)を表し; R^2 は水素、ハロゲン、ヒドロキシ、 C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} アルコキシ、 C_{1-4} アルキルアミノ、ジ[C_{1-4} アルキル]アミノ及び-NHCO- R^9 (ここで、 R^9 は C_{1-4} アルキル、 C_{1-4} アルコキシ、 C_{2-4} アルケニル又は C_{2-4} アルキニルを示す。)からなる群から選択され;Uは R^3 基で置換され、かつさらに所望により独立に選択される少なくとも1個の R^4 基で置換されていてもよいフェニル、ピリジル、3H-イミダゾリル、インドリル、イソインドリル、インドリニル、イソインドリニル、1H-インダゾリル、2,3-ジヒドロ-1H-インダゾリル、1H-ベンズイミダゾリル、2,3-ジヒドロ-1H-ベンズイミダゾリル又は1H-ベンゾトリアゾリル基を表し; R^3 はベンジル、ハロー、ジハロー及びトリハロベンジル、ベンゾイル、ピリジルメチル、ピリジルメトキシ、フェノキシ、ベンジルオキシ、ハロー、ジハロー及びトリハロベンジルオキシならびにベンゼンスルホニルからなる群から選択されるか;又は R^3 はトリハロメチルベンジル又はトリハロメチルベンジルオキシを表すか;又は R^3 は上記式(a)の基を表し(式中、 R^5 は各々独立にハロゲン、 C_{1-4} アルキル及び C_{1-4} アルコキシから選択され;かつ、nは0~3である); R^4 は各々独立にヒドロキシ、ハロゲン、 C_{1-4} アルキル、 C_{2-4} アルケニル、 C_{2-4} アルキニル、 C_{1-4} アルコキシ、アミノ、 C_{1-4} アルキルアミノ、ジ[C_{1-4} アルキル]アミノ、 C_{1-4} アルキルチオ、 C_{1-4} アルキルスルフィニル、 C_{1-4} アルキルスルホニル、 C_{1-4} アルキルカルボニル、カルボキシ、カルバモイル、 C_{1-4} アルコキシカルボニル、 C_{1-4} アルカノイルアミノ、N-(C_{1-4} アルキル)カルバモイル、N,N-ジ(C_{1-4} アルキル)カルバモイル、シアノ、ニトロ及びトリフルオロメチルである。)で示される置換ヘテロ芳香族化合物、もしくはその薬学的に許容される塩、それらの水和物もしくは溶媒和物、それらの光学活性体もしくはラセミ体、又は、それらのジアステレオマー混合物である請求の範囲1から14のいずれか1項に記載の阻害剤。

16. (4-(3-フルオロベンジルオキシ)-フェニル)-(6-(5-(2-メタンスルホニル-エチルアミノ)メチル)-フラン-2-イル)-ピリド[

3, 4-d] ピリミジン-4-イル) -アミン;

(4-ベンジルオキシフェニル) - (6- (5- ((2-メタンスルホニル-エチル
アミノ) -メチル) -フラン-2-イル) -キナゾリン-4-イル) -アミン;

5 N- {4- [(3-フルオロベンジル) オキシ] フェニル} -6- [5- ({2- (メチルスルホニル) エチル] アミノ} メチル) -2-フリル] -4-キナゾリンア
ミン;

N- [4- (ベンジルオキシ) フェニル] -7-メトキシ-6- [5- ({2- (メチルスルホニル) エチル] アミノ} メチル) -2-フリル] -4-キナゾリンア
ミン;

10 N- (1-ベンジル-1H-インダゾール-5-イル) -7-メトキシ-6- [5-
- ({2- (メチルスルホニル) エチル] アミノ} メチル) -2-フリル] -4-
キナゾリンアミン;

N- {3-フルオロ-4- [(3-フルオロベンジル) オキシ] フェニル} -6- [5-
5- ({2- (メチルスルホニル) エチル] アミノ} メチル) -2-フリル] -4-
15 -キナゾリンアミン;

N- [1- (3-フルオロベンジル) -1H-インダゾール-5-イル] -6- [2-
2- ({2- (メチルスルホニル) エチル] アミノ} メチル) -1, 3-チアゾー
ル-4-イル] -4-キナゾリンアミン;

6- [5- ({2- (メチルスルホニル) エチル] アミノ} メチル) -2-フリル
20] -N- [4- (フェニルスルホニル) フェニル] -4-キナゾリンアミン;

N- {3-フルオロ-4- [(3-フルオロベンジル) オキシ] フェニル} -6- [2-
2- ({2- (メチルスルホニル) エチル] アミノ} メチル) -1, 3-チアゾー
ル-4-イル] -4-キナゾリンアミン;

N- (1-ベンジル-1H-インダゾール-5-イル) -6- [2- ({2- (メ
25 チルスルホニル) エチル] アミノ} メチル) -1, 3-チアゾール-4-イル] -
4-キナゾリンアミン;

N- (3-フルオロ-4-ベンジルオキシフェニル) -6- [5- ({2- (メチ

ルスルホニル) エチル] アミノ} メチル) - 4 - フリル] - 4 - キナゾリンアミン ;

N - (3 - クロロ - 4 - ベンジルオキシフェニル) - 6 - [2 - ({ [2 - (メチルスルホニル) エチル] アミノ} メチル) - 4 - フリル] - 4 - キナゾリンアミン ;

5 N - { 3 - クロロ - 4 - [(3 - フルオロベンジル) オキシ] フェニル} - 6 - [5 - ({ [2 - (メチルスルホニル) エチル] アミノ} メチル) - 2 - フリル] - 4 - キナゾリンアミン ;

N - (1 - ベンジル - 1 H - インダゾール - 5 - イル) - 7 - フルオロ - 6 - [5 - ({ [2 - (メチルスルホニル) エチル] アミノ} メチル) - 2 - フリル] - 4 -

10 キナゾリンアミン ;

N - (3 - トリフルオロメチル - 4 - ベンジルオキシフェニル) - 6 - [5 - ({ [2 - (メチルスルホニル) エチル] アミノ} メチル) - 4 - フリル] - 4 - キナゾリンアミン ;

15 N - [4 - (3 - クロロ - 4 - フルオロフェニル) アミノ - 7 - [3 - (4 - モルホリニル) プロボキシ] キナゾリン - 6 - イル] アクリルアミド ;

N - { 4 - [(3 - クロロ - 4 - フルオロフェニル) アミノ] - 7 - [3 - メチル - 3 - (4 - メチル - 1 - ピペラジニル) - 1 - ブチニル] - 6 - キナゾリニル} アクリルアミド ; 又は

20 N - { 3 - クロロ - 4 - [(3 - フルオロベンジル) オキシ] フェニル} - 6 - [5 - ({ [2 - (メタンスルホニル) エチル] アミノ} メチル) - 2 - フリル] - 4 - キナゾリンアミンもしくはその薬学的に許容される塩、それらの水和物もしくは溶媒和物、それらの光学活性体もしくはラセミ体、又は、それらのジアステレオマー混合物である請求の範囲 1 から 15 のいずれか 1 項に記載の阻害剤。

17. N - [4 - (3 - クロロ - 4 - フルオロフェニル) アミノ] - 7 - [3 - (4 - モルホリニル) プロボキシ] キナゾリン - 6 - イル] アクリルアミド、又は
25 N - { 3 - クロロ - 4 - [(3 - フルオロベンジル) オキシ] フェニル} - 6 - [5 - ({ [2 - (メタンスルホニル) エチル] アミノ} メチル) - 2 - フリル] - 4 - キ

ナゾリンアミンもしくはその薬学的に許容される塩、それらの水和物もしくは溶媒和物、それらの光学活性体もしくはラセミ体又はそれらのジアステレオマー混合物である請求の範囲 1 から 16 のいずれか 1 項に記載の阻害剤。

18. 請求の範囲 1 から 17 のいずれか 1 項に記載の阻害剤を有効成分として含有し、かつ製薬上許容され得る担体を含有する医薬組成物。

19. Her2又は／及びEGFRの過剰発現又は活性化に起因する疾患の予防又は／及び治療薬である請求の範囲 18 に記載の医薬組成物。

20. Her2又は／及びEGFRの過剰発現又は活性化に起因する疾患が癌、癌及び肉腫の成長に伴う血管新生、癌転移に伴う血管新生、糖尿病性網膜症に伴う血管新生、動脈硬化、又は乾癬である請求の範囲 19 に記載の医薬組成物。

21. Her2又は／及びEGFRの発現又は活性を検出するための検査により被検対象のHer2又は／及びEGFRの発現又は活性を診断し、その結果、Her2又は／及びEGFRが過剰発現又は活性化していると判断された被検対象に対して投与するための、Her2又は／及びEGFRの過剰発現又は活性化に起因する疾患の予防又は／及び治療薬。

22. Her2又は／及びEGFRの過剰発現又は活性化に起因する疾患が癌、癌及び肉腫の成長に伴う血管新生、癌転移に伴う血管新生、糖尿病性網膜症に伴う血管新生、動脈硬化、又は乾癬である請求の範囲 21 に記載の予防又は／及び治療薬。

23. Her2又は／及びEGFRの発現又は活性を検出するための検査により被検対象のHer2又は／及びEGFRの発現又は活性を診断し、その結果、Her2又は／及びEGFRが過剰発現又は活性化していると判断された被検対象に対して有効量のHer2又は／及びEGFR阻害剤を投与することを特徴とする、Her2又は／及びEGFRの過剰発現又は活性化に起因する疾患の予防又は／及び治療方法。

24. Her2又は／及びEGFRの過剰発現又は活性化に起因する疾患が癌、癌及び肉腫の成長に伴う血管新生、癌転移に伴う血管新生、糖尿病性網膜症に伴う血管新生、動脈硬化、又は乾癬である請求の範囲 23 に記載の予防又は／及び治療方法。

25. 請求の範囲 18 から 20 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物、及び該医薬組成物をHer2又は／及びEGFRの過剰発現又は活性化に起因する疾患の予防又は／及び

治療に使用し得るか又は使用すべきであることを記載した書類とを含む商業的パッケージ。

26. Her2又は/及びEGFRの過剰発現又は活性化に起因する疾患が癌、癌及び肉腫の成長に伴う血管新生、癌転移に伴う血管新生、糖尿病性網膜症に伴う血管新生、

5 動脈硬化、又は乾癬である請求の範囲25に記載の商業的パッケージ。

10

15

20

25

BEST AVAILABLE COPY

図 1

レーン 1 2 3 4 5 6 7 8

上段



下段



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/06988

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K45/00, 31/517, 31/519, 31/5377, A61P9/10, 17/06,
27/02, 35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K45/00, 31/517, 31/519, 31/5377, A61P9/10, 17/06,
27/02, 35/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA (STN), MEDLINE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99/35146 A1 (Glaxo Group Ltd.), 15 July, 1999 (15.07.99), Full text & CA 2317589 A & AU 749549 B2 & BR 9906904 A & EP 1047694 A1 & JP 2002-500225 A	1-22, 25-26
X	WO 00/31048 A1 (Warnar-Lambert Co.), 02 June, 2000 (02.06.00), Full text & EP 1131304 B1 & US 6344455 B1 & JP 2002-530386 A	1-22, 25-26

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
12 August, 2003 (12.08.03)

Date of mailing of the international search report
26 August, 2003 (26.08.03)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/06988

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 23-24
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 23 to 24 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K 45/00, 31/517, 31/519, 31/5377,
A61P 9/10, 17/06, 27/02, 35/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K 45/00, 31/517, 31/519, 31/5377,
A61P 9/10, 17/06, 27/02, 35/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), MEDLINE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	WO 99/35146 A1 (グラクソ グループ リミテッ ド) 1999. 07. 15, 全文 & CA 2317589 A & AU 749549 B2 & BR 9906904 A & EP 1047694 A1 & JP 2002-500225 A	1-22, 25-26
X	WO 00/31048 A1 (ワーナー・ランバート・カンパニ ー) 2000. 06. 02, 全文 & EP 1131304 B1 & US 6344455 B1 & JP 2002-530386 A	1-22, 25-26

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

12. 08. 03

国際調査報告の発送日

26.08.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

八原 由美子



4C

9261

電話番号 03-3581-1101 内線 3451

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT 17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 23-24 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
請求の範囲 23-24 に記載は、治療による人体の処置方法に該当し、PCT 17条(2)(a)(i) 及び PCT 規則 39.1(iv) の規定により、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であって PCT 規則 6.4(a) の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

10/516360

特 許 協 力 条 約

PCT

国際予備審査報告

REC'D 21 MAY 2004

WIPO

PCT

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

出願人又は代理人 の書類記号 09559	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO3/06988	国際出願日 (日.月.年) 03.06.2003	優先日 (日.月.年) 03.06.2002
国際特許分類(IPC) Int. Cl. ⁷ A61K 45/00, 31/517, 31/519, 31/5377, A61P 9/10, 17/06, 27/02, 35/00		
出願人(氏名又は名称) 三菱ウェルファーマ株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。

2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 5 ページからなる。

☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
この附属書類は、全部で ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

I ☒ 国際予備審査報告の基礎

II ☐ 優先権

III ☒ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成

IV ☐ 発明の単一性の欠如

V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明

VI ☐ ある種の引用文献

VII ☐ 国際出願の不備

VIII ☒ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 26.12.2003	国際予備審査報告を作成した日 30.04.2004	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/J-P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 八原由美子	4C 9261
電話番号 03-3581-1101 内線		

様式PCT/IPEA/409(表紙)(1998年7月)

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT 14条)の規定に基づく命令に
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
 PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- | | | |
|-------------------------------------|----------------|-----------------------|
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 _____ ページ、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 _____ ページ、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 _____ ページ、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ 項、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ 項、 | PCT 19条の規定に基づき補正されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ 項、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ 項、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 _____ ページ/図、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 _____ ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 _____ ページ/図、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 _____ ページ、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 _____ ページ、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 _____ ページ、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出された磁気ディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された磁気ディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列と磁気ディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

Ⅲ. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成

1. 次に関して、当該請求の範囲に記載されている発明の新規性、進歩性又は産業上の利用可能性につき、次の理由により審査しない。

☐ 国際出願全体

☒ 請求の範囲 23-24

理由：

☒ この国際出願又は請求の範囲 23-24 は、国際予備審査をすることを要しない次の事項を内容としている（具体的に記載すること）。

請求の範囲 23-24 に記載のものは、「治療による人体の処置方法」に該当する（PCT規則 67.1(iv)）。

☐ 明細書、請求の範囲若しくは図面（次に示す部分）又は請求の範囲 の記載が、不明確であるため、見解を示すことができない（具体的に記載すること）。

☐ 全部の請求の範囲又は請求の範囲 が、明細書による十分な裏付けを欠くため、見解を示すことができない。

☒ 請求の範囲 23-24 について、国際調査報告が作成されていない。

2. ヌクレオチド又はアミノ酸の配列表が実施細則の附属書C（塩基配列又はアミノ酸配列を含む明細書等の作成のためのガイドライン）に定める基準を満たしていないので、有効な国際予備審査をすることができない。

☐ 書面による配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

☐ 磁気ディスクによる配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)	請求の範囲		有
	請求の範囲	1-22, 25-26	無
進歩性 (IS)	請求の範囲		有
	請求の範囲	1-22, 25-26	無
産業上の利用可能性 (IA)	請求の範囲	1-22, 25-26	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

国際調査報告において、以下の文献が示された。

文献1: WO 99/35146 A1 (グラクソ グループ リミテッド)
 文献2: WO 00/31048 A1 (ワーナー-ランバート・カンパニー)

文献1には、本国際出願の請求の範囲15の一般式(I)で定義される化合物と同一の化合物が、erbB-2又は/及びEGFRを阻害する作用を有すること、及び、かかる作用を介して、癌、乾癬の治療用途に用い得ることが記載されている。

したがって、本国際出願請求の範囲1-22, 25-26に記載のものは、文献1に対して、新規性、進歩性を有さない。

文献2には、本国際出願の請求の範囲15の一般式(I)で定義される化合物と同一の化合物が、erbB-2又は/及びEGFRを阻害する作用を有すること、及び、かかる作用を介して、癌、動脈硬化、あるいは乾癬の治療用途に用い得ることが記載されている。

したがって、本国際出願請求の範囲1-22, 25-26に記載のものは、文献2に対して、新規性、進歩性を有さない。

Ⅶ. 国際出願に対する意見

請求の範囲、明細書及び図面の明瞭性又は請求の範囲の明細書による十分な裏付についての意見を次に示す。

請求の範囲 1-14, 18-22, 25-26 は、「Her2 又は／及び EGFR 阻害」活性という所望の性質により定義された化合物を有効成分とする組成物に関するものである。そして、これらの請求の範囲は、そのような性質を有するあらゆる化合物を包含するものであるが、PCT 6 条の意味において明細書に裏付けられ、また、PCT 5 条の意味において開示されているのは、クレームされた化合物のごくわずかな部分にすぎないものと認められる。

また、「Her2 又は／及び EGFR 阻害剤」は、出願時の技術常識を勘案してもそのような性質を有する化合物の範囲を特定できないから、これらの請求の範囲は、PCT 6 条における明確性の要件も欠いている。